



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 0715169-1 A2



(22) Data de Depósito: 02/08/2007
(43) Data da Publicação: 11/06/2013
(RPI 2214)

(51) Int.Cl.:
C07D 487/04
A61K 31/519
A61P 25/22

(54) Título: PIRAZOL[1,5-A]PIRIMIDINAS, PROCESSO, USOS E COMPOSIÇÕES

(30) Prioridade Unionista: 04/08/2006 EP 06 118454.5,
04/08/2006 US 60/835,444

(73) Titular(es): Ferrer Internacional, S.A.

(72) Inventor(es): Albert Palomer , Antonio Guglietta, Luis Anglada

(74) Procurador(es): Dannemann ,Siemens, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT EP2007058006 de
02/08/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2008/015253de
07/02/2008

(57) Resumo: PIRAZOL[1,5-A]PIRIMIDINAS, PROCESSOS, USOS E COMPOSIÇÕES. A presente invenção refere-se a novas pirazol[1,5-a]pirimidinas que são úteis para tratamento ou prevenção de ansiedade, epilepsia e distúrbios do sono incluindo insônia, e para indução de hipnose por sedação, anestesia, sono e relaxamento muscular.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "PIRAZOL[1,5-a]PIRIMIDINAS, PROCESSOS, USOS E COMPOSIÇÕES".

Campo Técnico

5 A presente invenção refere-se a agentes com afinidade por receptor de GABA_A, especificamente a pirazol[1,5-a]pirimidinas, e mais especificamente a N-{2-substituído-5-[3-substituído-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamidas e N-{2-substituído-5-[3-substituído-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamidas.

Antecedentes da Invenção

10 Receptor de GABA_A (ácido_A γ -aminobutírico) é uma proteína pentamérica que forma um canal de íon de membrana. Receptor de GABA_A está implicado na regulação de sedação, ansiedade, tônus muscular, atividade epileptogênica e funções de memória. Estas ações são devido a sub-unidades definidas de receptor de GABA_A, particularmente as sub-unidades
15 de α_1 e α_2 .

Sedação é modulada pela sub-unidade α_1 . Zolpidem é caracterizado por uma alta afinidade pelos receptores de α_1 e sua ação sedativa e hipnótica é mediada por estes receptores *in vivo*. Similarmente, a ação hipnótica de zaleplon é também mediada pelos receptores α_1 .

20 A ação ansiolítica de diazepam é mediada pelo realce de transmissão de GABAérgico em uma população de neurônios expressando os receptores α_2 . Isto indica que os receptores α_2 são alvos altamente específicos para o tratamento de ansiedade.

25 Relaxamento muscular em diazepam é principalmente mediado por receptores α_2 , uma vez que estes receptores exibem uma expressão altamente específica em medula espinhal.

O efeito anti-convulsivante de diazepam é parcialmente devido a receptores de α_1 . Em diazepam, um composto de comprometimento de memória, aminésia anterógrada é mediada por receptores α_1 .

30 Receptor de GABA_A e suas sub-unidades de α_1 e α_2 foram amplamente revistas em H. Mólher e outros (J. Pharmacol. Exp. Ther., 300, 2-8, 2002); H. Mólher e outros (Curr. Opin. Pharmacol., 1, 22-25, 2001);

U. Rudolph e outros (Nature, 401, 796-800, 1999); e DJ. Nutt e outros (Br. J. Psychiatry, 179, 390-396, 2001).

5 Diazepam e outras benzodiazepinas clássicas são extensivamente usados como agentes ansiolíticos, agentes hipnóticos, anti-convulsivantes e relaxantes musculares. Seus efeitos colaterais incluem aminésia anterógrada, diminuição em atividade motora e potenciação de efeitos de etanol.

10 Neste contexto, os compostos desta invenção são ligandos de receptor de GABA_A de α_1 e α_2 para sua aplicação clínica em distúrbios do sono, de preferência insônia, ansiedade e epilepsia.

15 Insônia é uma doença altamente prevalente. Sua cronicidade afeta 10% da população e 30% quando insônia transitória é computada também. Insônia descreve o problema em ter sono ou permanecer adormecido e está associada com efeitos de ressaca do dia seguinte tais como cansaço, falta de energia, baixa concentração e irritabilidade. O impacto social e de saúde desta enfermidade é importante e resulta em repercussões socioeconômicas evidentes.

20 Terapia farmacológica no controle de insônia primeiramente incluiu barbituratos e hidrato de cloral, mas estes fármacos produzem numerosos efeitos adversos conhecidos, por exemplo, toxicidade de overdose, indução metabólica, e dependência realçada e tolerância. Além disso, eles afetam a arquitetura do sono por diminuição acima de tudo da duração e do número de estágios do sono de REM. Posteriormente, benzodiazepinas significaram um avanço terapêutico importante por causa de sua toxicidade mais baixa, mas elas ainda mostraram sérios problemas de dependência, relaxamento muscular, aminésia e insônia ressaltada em seguida à descontinuação de medicação.

30 O método terapêutico conhecido mais recente foi a introdução de hipnóticos de não-benzodiazepina, tais como pirrolo[3,4-b]pirazinas (zopiclona), imidazo[1,2-a]piridinas (Zolpidem) e, finalmente, pirazol[1,5-a]pirimidinas (zaleplon). Posteriormente, duas novas pirazol[1,5-a]pirimidinas, indiplon e ocinaplon, entraram em desenvolvimento, o último com bastante ação

ansiolítica. Todos estes compostos mostram uma indução de sono rápida e possuem menos efeitos de ressaca do dia seguinte, potencial mais baixo para abuso e risco mais baixo de insônia ressaltada do que benzodiazepinas. O mecanismo de ação destes compostos é a ativação alostérica de receptor de GABA_A através de sua ligação a sítio de ligação de benzodiazepina (C. F. P. George, The Lancet, 358, 1623-1626, 2001). Enquanto benzodiazepinas são ligandos inespecíficos em sítio de ligação de receptor de GABA_A, Zolpidem e zaleplon mostram uma seletividade maior por sub-unidade de α_1 . Apesar de que, estes fármacos ainda afetam a arquitetura do sono e podem induzir dependência em tratamentos de longa duração.

Uma variedade de pirazol[1,5-a]pirimidinas relacionadas foram descritas em publicações de patente US4178449, US4281000, US4521422 (2-piridinil[7-(4-piridinil)pirazol[1,5-a]pirimidin-3-il]metanona, ocinaplon), US4576943, US4626538 (N-{3-[3-(cianopirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil)-N-etil-acetamida, zaleplon), US4654347, US6399621 (N-{3-[3-(tiofeno-2-carbonil)-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida, indiplon), WO2005014596, WO2005014597 e em WO 2006136530.

Pesquisa por novos compostos ativos no controle de insônia responde uma necessidade de saúde fundamental, porque hipnóticos até recentemente introduzidos ainda afetam a arquitetura do sono e podem induzir dependência em tratamentos de longa duração.

É por esse motivo desejável focalizar no desenvolvimento de novos agentes hipnóticos com um risco mais baixo de efeitos colaterais.

Sumário da Invenção

Inventores constataram novas pirazol[1,5-a]pirimidinas que são ativas versus GABA_A e, particularmente, versus suas sub-unidades de α_1 e α_2 . Por conseguinte, os compostos desta invenção são úteis no tratamento e prevenção de todas aquelas doenças mediadas por sub-unidades de α_1 e α_2 de receptor de GABA_A. Exemplos não limitativos de tais doenças são distúrbios do sono, de preferência insônia, ansiedade e epilepsia. Exemplos não limitativos das indicações relevantes dos compostos desta invenção são todas aquelas doenças ou condições, tais como insônia ou anestesia, em que

uma indução de sono, uma indução de sedação ou uma indução de relaxamento muscular são necessárias.

Zaleplon, o composto de referência de pirazol[1,5-a]pirimidina, é um composto estruturalmente similar aos compostos da presente invenção.

5 No entanto, zaleplon exibe uma biotransformação extensiva devido a aldeído oxidase (B. G. Lake e outros, *Metabolism of zaleplon by human liver: evidence for involvement of aldehyde oxidase*, *Xenobiotica*, 2002 Oct;32(10):835-47; e K. Kawashima e outros, *Aldehyde oxidase-dependent marked species difference in hepatic metabolism of the sedative-hipnotic zaleplon, between*
10 *monkeys and rats*, *Drug Metab Dispos.* 1999 Mar;27(3):422-8). Ainda que outra pirazol[1,5-a]pirimidina com estabilidade metabólica melhor do que zaleplon seja conhecida na técnica, indiplon, este composto possui a desvantagem de possuir efeitos toxicológicos elevados, tal como mostrado por experimentos de viabilidade celular.

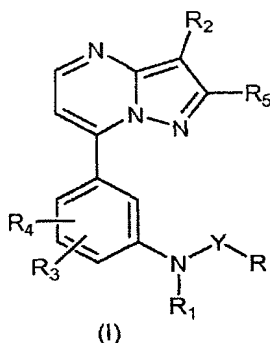
15 A suscetibilidade de compostos a biotransformação está relacionada a sua estabilidade metabólica, isto é, à meia vida do fármaco no corpo e se eles formam metabólitos. Estes são parâmetros importantes para avaliar a biodisponibilidade, toxicidade, e dosagem potencial para interação de fármaco-fármaco, que, por sua vez, são importantes parâmetros na determi-
20 nação de seu potencial para uso humano. Neste respeito, compostos com máxima estabilidade metabólica minimizam o potencial para interações de fármaco-fármaco e necessidade de intervalos de dosagem menos frequentes.

Os compostos da presente invenção mostram biotransformações
25 raras inesperadas, isto é, estabilidade metabólica maior do que outras pirazol[1,5-a]pirimidinas relacionadas conhecidas, que melhora o perfil farmacocinético facilitando a manutenção de efeito farmacológico e fornece uma indicação inesperada para manutenção de um sono de noite completo. Esta propriedade é relacionada à substituição no anel de fenila, isto é, substituintes
30 R_3 e R_4 . Particularmente bons são compostos portando substituintes de remoção de elétron no anel de fenila.

Além disso, os compostos da presente invenção, tal como ilus-

trado nos exemplos, também mostram uma boa atividade terapêutica de sedação/hipnótica *in vivo* e baixos efeitos toxicológicos tal como demonstrado em experimentos de viabilidade celular.

5 Desta forma, a presente invenção refere-se a um composto de fórmula (I):

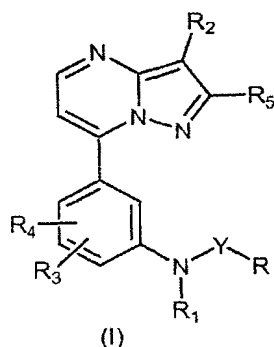


e sais farmacologicamente aceitáveis e hidratos destes, que são ligandos de receptor de GABA_A em que R e R₁ representam alquil(C₁-C₆), R₂ é selecionado do grupo consistindo em ciano, nitro e tiofeno-2-carbonila, R₃ é selecionado do grupo consistindo em hidrogênio e halogênio, R₄ é selecionado do grupo consistindo em hidrogênio, halogênio, alquil(C₁-C₆) e alcóxi(C₁-C₆), R₅ é selecionado do grupo consistindo em hidrogênio e alquil(C₁-C₆), e Y é selecionado do grupo consistindo em -CO- e -SO₂-; e sais farmacologicamente aceitáveis e hidratos destes.

15 É outro objetivo desta invenção fornecer novos métodos de tratamento ou prevenção de ansiedade, epilepsia e distúrbios do sono incluindo insônia, e para indução de hipnose por sedação, anestesia, sono e relaxamento muscular através de administração de uma quantidade terapêuticamente eficaz dos referidos compostos ou um sal farmacologicamente aceitável ou hidrato destes.

20 Descrição Detalhada da Invenção

Tal como é referido acima, a presente invenção refere-se a um composto de fórmula (I):



e sais farmacologicamente aceitáveis e hidratos destes, em que R, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ e Y são tal como mencionado acima.

O termo "sal farmacologicamente aceitável" usado aqui abrange qualquer sal formado de ácidos orgânicos e inorgânicos, tais como ácidos
 5 hidrobrômico, hidrolórico, fosfórico, nítrico, sulfúrico, acético, adípico, aspártico, benzenossulfônico, benzóico, cítrico, etanossulfônico, fórmico, fumárico, glutâmico, láctico, maléico, málico, malônico, mandélico, metanossulfônico, 1,5-naftalendissulfônico, oxálico, piválico, propiônico, p-toluenossulfônico, sucínico, tartárico e outros mais.

10 Compostos específicos de fórmula (I) são selecionados do grupo consistindo em:

N-{2-flúor-5-[3-nitro-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida;

N-{2-flúor-5-[3-ciano-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida;

N-{2-cloro-5-[3-nitro-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida;

15 N-{2-cloro-5-[3-ciano-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida;

N-{2-flúor-5-[3-nitro-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida;

N-{2-flúor-5-[3-ciano-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida;

20 N-{2-cloro-5-[3-nitro-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida;

N-{2-cloro-5-[3-ciano-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida;

25 N-{2-flúor-5-[3-ciano-2-metil-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida;

N-{2-cloro-5-[3-ciano-2-metil-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida;

N-{2-flúor-5-[3-ciano-2-metil-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida;

5 N-{2-cloro-5-[3-ciano-2-metil-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida;

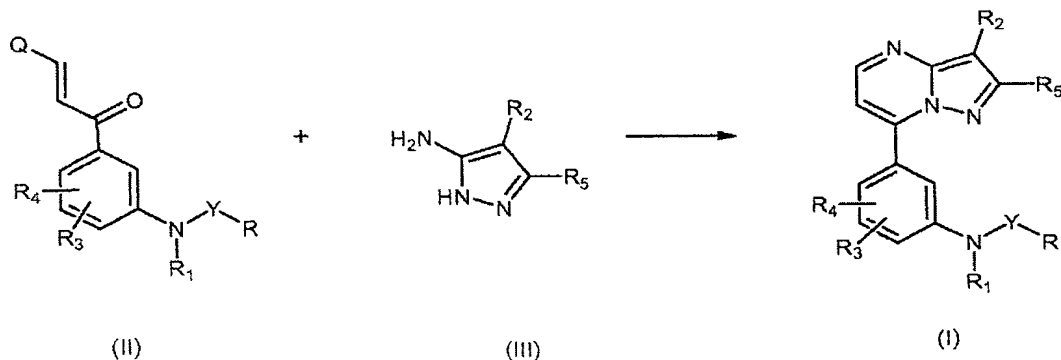
N-{2-metil-5-[3-(tiofeno-2-carbonil)-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida;

10 N-{2-metóxi-5-[3-(tiofeno-2-carbonil)-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida;

N-{2,4-diflúor-5-[3-(tiofeno-2-carbonil)-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida; e

N-{5-flúor-2-metóxi-3-[3-(tiofeno-2-carbonil)-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida.

15 Os seguintes Esquemas de reação ilustram a preparação dos compostos da presente invenção.



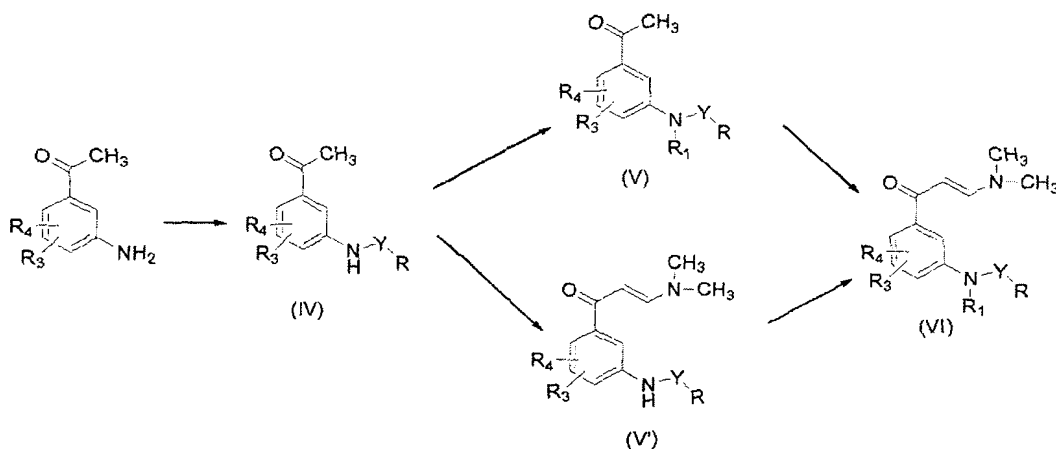
Esquema 1

R, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ e Y são tal como descrito acima, e Q é um grupo de partida apropriado selecionado do grupo consistindo em N(dialquil(C₁C₆)),
 20 alquiltio(C₁C₆) e alcóxi(C₁C₆). De preferência Q é selecionado do grupo consistindo em dimetilamino, metiltio ou metóxi.

A reação de aminopirazol de fórmula geral (III) com uma 1-aryl-2-propen-1-ona (II) apropriadamente substituída é realizada em um solvente prótico ou aprótico polar inerte tal como ácido acético glacial, etanol, meta-
 25 nol, dimetilformamida ou dimetilsulfóxido em uma temperatura variando de

50° a 130°C. Depois da passagem de diversas horas (tempo de reação), o solvente é removido e o resíduo obtido é dividido entre uma solução aquosa de bicarbonato de sódio e diclorometano. O produto cru resultante de evaporação da camada orgânica até a secura pode ser purificado por um dos seguintes métodos: (a) cromatografia de sílica gel usando acetato de etila ou diclorometano/metanol como eluente; ou (b) cristalização em um solvente adequado (acetato de etila, etanol, metanol, etc.).

O intermediário de fórmula (II) quando Q é dimetilamino [intermediário (VI)] pode ser obtido seguindo a seqüência de reação mostrada no Esquema 2



Esquema 2

em que R, R₁, R₃, R₄ e Y são tal como descrito acima.

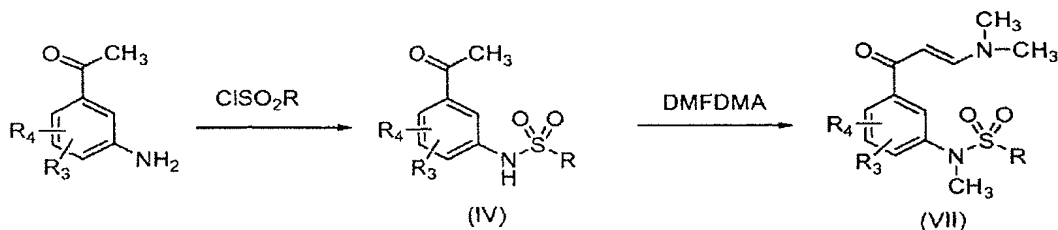
Os intermediários de fórmula (IV) quando Y é um grupo de sulfonila são preparados de acordo com o método descrito em R. H. Uloth e outros (J. Med. Chem. 9, 88-96, 1966).

A alquilação dos intermediários (IV) resultando nos intermediários de fórmula (V) é desempenhada, de acordo com métodos bem conhecidos por peritos em Química Orgânica, por meio de formação de um ânion e subsequente reação com um haleto de alquila.

As enaminonas de fórmula (V) e (VI) são preparadas de acordo com procedimentos sintéticos gerais de enaminas descritos em J. M. Domagala e outros (J. Heterocyclic Chem., 26(4), 1147-58, 1989); e K. Sawada e outros (Chem. Pharm. Bull., 49(7), 799-813, 2001) através de reação de uma

acetofenona com dimetilacetal de N,N-dimetilformamida (DMFDMA) ou reagente de Brederick (*terc*-butoxibis(dimetilamino)metano).

Os intermediários de fórmula (II), quando Q é dimetilamino, Y é sulfonila e R₁ é metila (VII), podem alternativamente ser preparados de acordo com Esquema 3

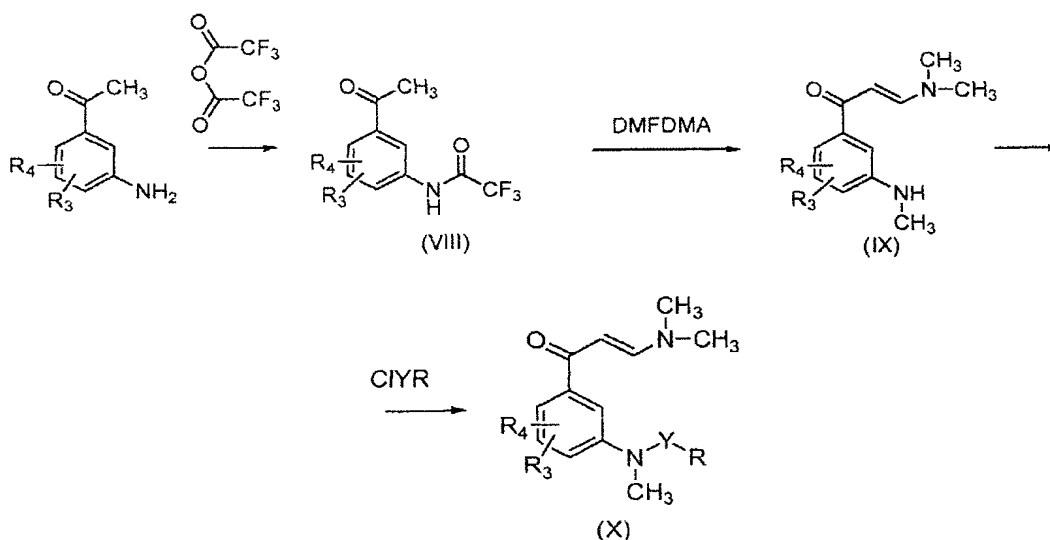


Esquema 3

em que R, R₃, e R₄ são tal como definido acima.

A conversão de (IV) em (VII) resulta na formação da enaminona e, simultaneamente, a formação da N-metil-sulfonamida como um resultado do uso das propriedades do dimetilacetal de N,N-dimetilformamida como um agente de metilação.

Os intermediários de fórmula (II), quando Q é dimetilamino, e R₁ é metila (X), podem também ser preparados de acordo com Esquema 4



Esquema 4

em que R, R₃, R₄ e Y são tal como definido acima.

A vantagem deste processo é com base no fato de que a forma-

ção da sulfonamida ou carboxamida ocorre no último estado de processo. Como um resultado, o número total de etapas de reação é reduzido na preparação de grandes séries de produtos. Além do mais, tal como mostrado no esquema, a conversão de (VIII) em (IX) resulta nas três seguintes reações em um processo de um pote: (a) formação da enaminona; (b) metilação da trifluoroacetamida; e (c) desacilação produzindo a amina N-metilada. A subsequente reação de (IX) com o correspondente cloreto de ácido sulfônico ou cloreto de ácido carboxílico resulta em obtenção de intermediários (X).

Os compostos da presente invenção ou seus sais farmacêuticamente aceitáveis ou hidratos podem ser usados para a preparação de um medicamento para tratamento ou prevenção de doenças associadas com modulação de receptor de GABA_A em um mamífero humano ou não humano. Mais especificamente, doenças associadas com modulação de receptor de GABA_A compreendem doenças associadas com modulação de receptor de GABA_A de α_1 e/ou modulação de receptor de GABA_A de α_2 . Uma lista não limitativa de tais doenças compreende ansiedade, epilepsia, distúrbios do sono, incluindo insônia, e outros mais.

Outra modalidade da presente invenção é fornecer o uso de um composto da presente invenção ou um sal farmacêuticamente aceitável ou hidrato deste para a preparação de um medicamento para tratamento ou prevenção de ansiedade em um mamífero humano ou não humano.

Outra modalidade da presente invenção é fornecer o uso de um composto da presente invenção ou um sal farmacêuticamente aceitável ou hidrato deste para a preparação de um medicamento para tratamento ou prevenção de epilepsia em um mamífero humano ou não humano em necessidade deste.

Outra modalidade da presente invenção é fornecer o uso de um composto da presente invenção ou um sal farmacêuticamente aceitável ou hidrato deste para a preparação de um medicamento para tratamento ou prevenção de distúrbios do sono em um mamífero humano ou não humano em necessidade deste.

Outra modalidade da presente invenção é fornecer o uso de um

composto da presente invenção ou um sal farmacologicamente aceitável ou hidrato deste para a preparação de um medicamento para tratamento ou prevenção de insônia em um mamífero humano ou não humano em necessidade deste.

5 Outra modalidade da presente invenção é fornecer o uso de um composto da presente invenção ou um sal farmacologicamente aceitável ou hidrato deste para a preparação de um medicamento para indução de hipnose por sedação em um mamífero humano ou não humano em necessidade desta.

10 Outra modalidade da presente invenção é fornecer o uso de um composto da presente invenção ou um sal farmacologicamente aceitável ou hidrato deste para a preparação de um medicamento para indução de anestesia em um mamífero humano ou não humano em necessidade desta.

15 Outra modalidade da presente invenção é fornecer o uso de um composto da presente invenção ou um sal farmacologicamente aceitável ou hidrato deste para a preparação de um medicamento para modulação do tempo necessário para induzir sono e sua duração em um mamífero humano ou não humano em necessidade deste.

20 Outra modalidade da presente invenção é fornecer o uso de um composto da presente invenção ou um sal farmacologicamente aceitável ou hidrato deste para a preparação de um medicamento para indução de relaxamento muscular em um mamífero humano ou não humano em necessidade desta.

25 A presente invenção também refere-se a um método de tratamento ou prevenção de um mamífero humano ou não humano sofrendo de doenças associadas com modulação de receptor de GABA_A em um mamífero humano ou não humano, que compreende administração ao referido mamífero humano ou não humano em necessidade deste de uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto da presente invenção ou sais farmacologicamente aceitáveis ou hidratos deste, junto com diluentes ou portadores farmacologicamente aceitáveis. Mais especificamente, doenças associadas com modulação de receptor de GABA_A compreendem doenças associ-

30

adas com modulação de receptor de GABA_A de cci e/ou modulação de receptor de GABA_A de α_2 . Uma lista não limitativa de tais doenças compreende ansiedade, epilepsia, distúrbios do sono, incluindo insônia, e outros mais.

5 Tal como usados aqui, o termo "mamífero" se referirá à classe mamífera de vertebrados elevados. O termo "mamífero" inclui, mas não está limitado a, um humano.

10 Outra modalidade da presente invenção é fornecer uma composição farmacêutica contendo um composto da presente invenção ou sais farmaceuticamente aceitáveis e hidratos deste, em associação com portadores terapêuticamente inertes.

15 As composições incluem aquelas adequadas para administração oral, retal e parenteral (incluindo subcutânea, intramuscular, e intravenosa), ainda que a rotina mais adequada dependa da natureza e severidade da condição sendo tratada. A rotina mais preferida da presente invenção é a rotina oral. As composições podem ser convenientemente apresentadas em forma de dosagem unitária, e preparadas por quaisquer dos métodos bem conhecidos na técnica de farmácia.

20 O composto ativo pode ser combinado com um portador farmacêutico de acordo com técnicas de composição farmacêuticas convencionais. O portador pode tomar uma ampla variedade de formas dependendo da forma da preparação desejada para administração, por exemplo, oral ou parenteral (incluindo injeções ou infusões intravenosas). No preparo das composições para forma de dosagem oral, quaisquer dos meios farmacêuticos usuais podem ser empregados. Meios farmacêuticos usuais incluem, por
25 exemplo, água, glicóis, óleos, alcoóis, agentes aromatizantes, preservativos, agentes corantes, e outros mais, no caso de preparações líquidas orais (tais como, por exemplo, suspensões, soluções, emulsões e elixires); aerossóis; ou portadores tais como amidos, açúcares, celulose microcristalina, diluentes, agentes de granulação, lubrificantes, aglutinantes, agentes desintegrantes e outros mais, no caso de preparações sólidas orais (tais como, por
30 exemplo, pós, cápsulas, e comprimidos) com as preparações sólidas orais sendo preferidas sobre as preparações líquidas orais.

Por causa de sua facilidade de administração, comprimidos e cápsulas representam a forma unitária de dosagem oral mais vantajosa, em cujo caso portadores farmacêuticos sólidos são empregados. Se desejado, comprimidos podem ser revestidos por técnicas aquosas ou não aquosas padrões.

Uma faixa de dosagem adequada para uso é de cerca de 0,01 mg a cerca de 100,00 mg de dose diária total, dada como uma administração de uma vez ao dia ou em doses divididas se requerido.

Os compostos da presente invenção possuem uma alta afinidade por receptores de GABA_A de α_1 e α_2 . Estes resultados *in vitro* são consistentes com aqueles resultados *in vivo* obtidos em testes de hipnose por sedação.

A atividade farmacológica dos compostos da presente invenção foi determinada tal como mostrado abaixo.

15 a) Ensaio de ligação de ligando. Determinação da afinidade de compostos de teste por receptor de GABA_A de α_1 e α_2 .

Ratos de Sprague-Dawley machos pesando 200 a 250 g no tempo de experimento foram usados. Depois de decapitação do animal, o cerebelo (tecido que principalmente contém receptor de GABA_A de α_1) e medula espinhal (tecido que principalmente contém receptor de GABA_A de α_2) foram removidos. As membranas foram preparadas de acordo com o método em J. Laméh e outros (Prog. Neuro- Psychopharmacol. Biol. Psychiatry, 24, 979-991, 2000) e H. Noguchi e outros (Eur. J. Pharm., 434, 21 -28, 2002) com leves modificações. Uma vez os tecidos pesados, eles foram suspensos em TrisHCl a 50 mM (pH 7,4), 1:40 (v/v), ou 0,32 M de sacarose no caso de medula espinhal, homogeneizados e em seguida centrifugados em 20.000 g durante 10 min em 7°C. A pélete resultante foi ressuspensa sob as mesmas condições e centrifugada de novo. A pélete foi finalmente ressuspensa em um volume mínimo e mantida em -80°C durante a noite. No dia seguinte, o processo foi repetido até que a pélete final foi ressuspensa em uma relação de 1:10 (v/v) no caso de cerebelo e em uma relação de 1:5 (v/v) no caso de medula espinhal.

Afinidade foi determinada por testes competitivos usando flumazenil radiorrotulado como ligando. Os testes foram desempenhados de acordo com os métodos descritos em S. Arbilla e outros (Eur. J. Pharmacol., 130, 257-263, 1986); e Y. Wu e outros (Eur. J. Pharmacol., 278, 125-132, 1995) usando placas de micro-título de 96 cavidades. As membranas contendo os receptores de estudo, flumazenil (radiorrotulagem em uma concentração final de 1 nM) e concentrações ascendentes de compostos de teste (em um volume total de 230 µL em tampão de TrisHCl a 50 mM [ph 7,4]) foram incubadas. Simultaneamente, as membranas foram apenas incubadas com o flumazenil radiorrotulado (ligação total, 100%) e na presença de uma concentração elevada de flumazenil não radiorrotulado (ligação não específica, estimação em % de ligando radiorrotulado). As reações começaram em adição do ligando radiorrotulado seguido por incubação durante 60 minutos em 4°C. No término do período de incubação, 200 µL de reação foram transferidos a uma placa de multi-tela (Millipore) e filtrados usando uma tubulação a vácuo e em seguida lavados três vezes com tampão de teste gelado. As placas de multi-tela foram equipadas com um filtro de GF/B que reteve as membranas contendo os receptores e o ligando radiorrotulado que foi ligado aos receptores. Depois de lavagem, as placas foram deixadas até a secura. Uma vez secadas, líquido de cintilação foi adicionado e deixado sob agitação durante a noite. No dia seguinte, as placas foram contadas usando um contador de cintilação de Perkin-Elmer Microbeta.

Para análise dos resultados, a porcentagem de ligação específica para cada concentração de composto de teste foi calculada tal como segue:

$$\text{ligação específica em \%} = (X-N/T-N) \times 100$$

onde,

X: quantidade de ligando ligado para cada concentração de composto.

T: ligação total, quantidade máxima ligada ao ligando radiorrotulado.

N: ligação não específica, quantidade de ligando radiorrotulado ligado de um modo não específico independente do receptor usado.

Cada concentração de compostos foi testada em triplicata e

seus valores médios foram usados para determinar os valores experimentais de ligação específica em % versus a concentração de composto. Dados de afinidade são expressados como inibição em % em concentrações de 10^{-5M} e 10^{-7M} para sub-unidade de α_1 e em 10^{-5M} para sub-unidade de α_2 . Os resultados destes testes são dados em Tabelas 1 e 2 respectivamente.

Tabela 1. Afinidade pela sub-unidade de α_1 do receptor de GABA_A

Composto	10^{-5M} de inibição em %	10^{-7M} de inibição em %
Exemplo preparativo 5	98,2	42,3
Exemplo preparativo 6	98,1	36,4
Exemplo preparativo 11	97,7	41,8
Exemplo preparativo 13	98,7	39,8
Exemplo preparativo 14	97,3	31,9
Zaleplon	97,2	26,1

Tabela 2. Afinidade pela sub-unidade de α_2 do receptor de GABA_A

Composto	10^{-5M} de inibição em %
Exemplo preparativo 5	94,5
Exemplo preparativo 6	87,5
Exemplo preparativo 11	95
Zaleplon	77,4

b) Determinação *in vivo* de ação sedativa-hipnótica profética

Os efeitos *in vivo* destes compostos foram avaliados por um hipnose a profética por teste de sedação em camundongos (D. J. Sanger e outros, Eur. J. Pharmacol., 313, 35-42, 1996; e G. Griebel e outros, Psychopharmacology, 146, 205-213, 1999).

Grupos de 5 a 8 camundongos de CD1 machos, pesando 22 a 26 g no tempo de teste, foram usados. Os compostos de teste foram administrados em doses intraperitoneais equimoleculares únicas, suspensos em ágar a 0,25% com uma gota de Tween 80 em um volume de 10 mL/kg. Duas doses foram testados em cada rotina. Animais de controle receberam o veículo sozinho. Usando um Sistema de Smart (Panlab, S. L., Spain), a distância percor-

rida em cm é registrada para cada camundongo em intervalos de 5 min durante um período de 30 minutos depois de dosagem intraperitoneal (ip). A porcentagem de inibição de distância percorrida de animais tratados versus animais de controle (os primeiros 5 min foram descartados) e valores de ED₅₀ foram calculados. Os resultados deste teste são dados em Tabelas 3 e 4.

Tabela 3. Determinação de atividade sedativa-hipnótica *in vivo* em camundongos

	atividade motora de inibição em %
	98 µmol/kg
Exemplo preparativo 5	89
Exemplo preparativo 6	76,3
Exemplo preparativo 11	83,8
Exemplo preparativo 13	95,6
Exemplo preparativo 14	89,6
Zaleplon	84,9

Tabela 4. Determinação dos valores de ED₅₀ em indução de sedação em camundongos

Composto	ED ₅₀ (µmol/kg)
Exemplo preparativo 11	16,9
Exemplo 2 de WO 2005014596	30,1
Exemplo 18 de WO 2005014596	19,9

10 Comparado com outras pirazol[1,5-a]pirimidinas representativas da técnica anterior, o composto de exemplo 11 da presente invenção exibiu uma ED₅₀ claramente mais baixa. Isto implica que o composto de exemplo 11 é mais potente *in vivo* uma vez que uma dose mais baixa é necessária para indução do efeito terapêutico.

15 c) Determinação *in vivo* de estabilidade metabólica em fração citosólica de hepatócitos humanos

Compostos foram dissolvidos em sulfóxido de dimetila para obter uma concentração inicial de 10 mM. Esta solução de matéria-prima foi em seguida diluída com solvente e tampão para obter concentração de ensaio

final de 5 μ M. Compostos foram testados em uma única concentração de 5 μ M em duplicata incubando com 1,0 mg/mL de citosol humano reunido (obtido de Xenotech pic) em 37°C. Metabolismo foi avaliado na presença ou ausência de cofatores e medido como perda de composto origem através de análise de LC/MS em pontos do tempo de 0,60 e 120 minutos. Porcentagens de compostos origem restantes foram em seguida calculadas. Resultados são mostrados em Tabela 5. Um método de LC genérico foi usado:

Fase móvel: A = ácido fórmico a 0,1% em água

B = Ácido fórmico a 0,1% em acetonitrilo

10 Coluna de HPLC: Higgins Clipius C18 5 μ m, 50 x 3mm

Taxa de Fluxo: 2 ml.min⁻¹

Gradiente:	Tempo	% A	% B
	0,00	95	5
	2,00	5	95
15	2,50	5	95
	2,60	95	5
	3,00	95	5

Tabela 5. Estabilidade metabólica em fração citosólica de hepatócitos humanos

	% de Origem	
	60 min	120 min
Exemplo preparativo 6	86	81
Exemplo preparativo 11	86	82
Zaleplon	79	68
Exemplo 18 de WO 2005014596	73	46

20 Surpreendentemente, os compostos de exemplos preparativos 6 e 11 mostram uma porcentagem elevada (10 a 20%) do composto origem restante comparados com zaleplon e o composto da técnica anterior de WO 2005014596, depois de incubação durante um período de 60 e 120 min. Por outro lado, zaleplon possui uma porcentagem mais baixa do composto origem restante em qualquer ponto do tempo e uma biotransformação elevada

25 de 60 a 120 min.

d) Determinação *in vitro* de toxicidade celular em células de HepG2, CHO-K1 e HeLa em 24 horas

HepG2 (células de carcinoma hepatocelular humano) e CHO-K1 (Chinese células de Ovário de *Hamster* Chinês) foram ambas obtidas da Co-
5 leção de Cultura do Tipo Americana (ATCC). HepG2 foram cultivadas em Meio Essencial Mínimo (MEM) contendo solução de sais de Earl com Gluta-
max[®] a 1,87mM e suplementadas com piruvato de sódio a 1 mM, aminoáci-
dos não essenciais a 0,1 mM, 100.000 U/L de penicilina, 100.000 µg/L de
estreptomicina e Soro Bovino Fetal a 10%. CHO-K1 foram mantidas em
10 meio de F-12 de Ham contendo Glutamax[®] a 1 mM e suplementadas com L-
glutamina a 1 mM, 100.000 U/L de penicilina, 100000 µg/L de estreptomicina
e Soro Bovino Fetal a 10%. Ensaio de Viabilidade de Célula de Uma Solução
Aquosa de Promega CellTiter 96[®], contém o sal de tetrazólio (MTS) que en-
zimas desidrogenase encontradas em células metabolicamente ativas con-
15 vertem no produto de formazan solúvel aquoso. A quantidade de produto de
formazan é proporcional ao número de células vivas em cultura.

Compostos foram dissolvidos em DMSO para obter uma concen-
tração inicial de 100 mM. Diluições em série foram feitas desta solução de ma-
téria-prima em DMSO para obter uma faixa de concentrações de 50 a 0,25 mM.
20 A solução de matéria-prima e diluições em série foram em seguida diluídas
1:100 com o respectivo meio de cultura de célula. No caso de células de CHO-
K1, concentrações em 1.000, 500, 250, 100, 50, 25, 10, 5 e 2,5 µM foram pre-
paradas para avaliar IC₅₀, enquanto que no caso de células de HepG2, concen-
trações finais em 1000, 100, 10 e 1 µM final foram ensaiadas a fim de calcular a
25 porcentagem de célula. A concentração de DMSO final em todas as cavidades
foi 1% v/v. Linhagens de células foram ambas incubadas com compostos de
teste durante 24 horas. Viabilidade celular relativa foi determinada espectrofo-
tometricamente em 490nm em seguida à adição da tintura MTS e incubação de
uma hora adicional. Tamoxifeno foi usado como o controle positivo.

30 Um protocolo análogo foi usado para determinar a toxicidade
celular em células de HeLa em 24 horas. Resultados são mostrados em Ta-
bela 6.

Tabela 6. Toxicidade celular em células de HepG2, CHO-K1 e HeLa em 24h

	% de viabilidade celular		IC ₅₀
	HepG2 em 100 µM	HeLa em 100 µM	CHO
Exemplo preparativo 11	84,5%	83,9%	185,6 µM
Exemplo 1 de US 6399621 (indiplon)	70%	67,9%	108,4 µM

Estes resultados mostram que composto de exemplo 11 da presente invenção é menos tóxico do que o composto de referência indiplon, uma vez que a sobrevivência celular para composto de exemplo 11 é maior do que indiplon (84,5% vs. 70%) na linhagem de célula de HepG2. Estes resultados foram também confirmados em outras duas linhagens de células ensaiadas.

Exemplo preparativo 1: N-{2-flúor-5-[3-nitro-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida

Uma mistura de 0,048 g (0,38 mmol) de 4-nitro-2H-pirazol-3-ilamina e 0,1 g (0,38 mmol) de N-[5-(3-dimetilamino-acriloil)-2-flúor-fenil]-N-metil-acetamida em 10 mL de ácido acético glacial foi refluxada durante 2,5 horas e em seguida o solvente foi removido através de destilação de pressão reduzida. Ao resíduo resultante foram adicionados 15 mL de diclorometano e 10 mL de solução de bicarbonato de sódio saturada. As duas camadas foram separadas, e a camada aquosa foi lavada com 10 mL de diclorometano. A camada orgânica foi lavada com 10 mL de água e secada sobre sulfato de magnésio. A camada de diclorometano foi evaporada até a secura para produzir um óleo que foi cromatografado (sílica gel) usando acetato de etila-diclorometano como eluente, desta forma fornecendo 61 mg (49% de rendimento) de um sólido correspondente a N-{2-flúor-5-[3-nitro-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1,97 (3H, s), 3,29 (3H, s), 7,29 (1 H, d, J = 4,4 Hz), 7,45 (1 H, t, J = 8,4 Hz), 7,89 a 8,02 (1 H, m), 8,07-8,09 (1H, m), 8,83 (1 H, s), 9,0 (1 H, d, J = 4,4 Hz). MS (ES) m/z = 330 (MH⁺) HPLC = 95,7%

Exemplo preparativo 2: N-{2-flúor-5-[3-ciano-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida

Uma mistura de 0,041 g (0,38 mmol) de 5-amino-1H-pirazol-4-carbonitrilo e 0,1 g (0,38 mmol) de N-[5-(3-dimetilamino-acriloil)-2-flúor-fenil]-N-metil-acetamida em 10 mL de ácido acético glacial foi refluxada durante 2,5 horas e em seguida o solvente foi removido através de destilação de pressão reduzida. Diclorometano (15 mL) e uma solução de bicarbonato de sódio saturada (10 mL) foram adicionados to o resíduo resultante. As duas camadas foram separadas, e a camada aquosa foi lavada com 10 mL de diclorometano. A camada orgânica foi lavada com 10 mL de água e secada sobre sulfato de magnésio. A camada de diclorometano foi evaporada até a secura para produzir um óleo que, na presença de acetato de etila, produziu 95 mg de N-{2-flúor-5-[3-ciano-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida como um sólido (81 % de rendimento).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 1,96 (3H, s), 3,28 (3H, s), 7,18 (1 H, d, J = 4,4 Hz), 7,42 (1 H, t, J = 8,8 Hz), 7,99 a 8,02 (1H, m), 8,09 a 8,12 (1H, m), 8,42 (1 H, s), 8,79 (1 H, d, J = 4,4 Hz). MS (ES) m/z = 310 (MH^+) HPLC = 97,8%

Exemplo preparativo 3: N-{2-cloro-5-[3-nitro-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida

Uma mistura de 0,054 g (0,43 mmol) de 4-nitro-2H-pirazol-3-ilamina e 0,120 g (0,43 mmol) de N-[5-(3-dimetilamino-acriloil)-2-cloro-fenil]-N-metil-acetamida em 10 mL de ácido acético glacial foi refluxada durante 2,5 horas e em seguida o solvente foi removido através de destilação de pressão reduzida. Diclorometano (15 mL) e uma solução de bicarbonato de sódio saturada (10 mL) foram adicionados ao resíduo resultante. As duas camadas foram separadas, e a camada aquosa foi lavada com 10 mL de diclorometano. A camada orgânica foi lavada com 10 mL de água e secada sobre sulfato de magnésio. A camada de diclorometano foi evaporada até a secura para produzir um óleo que foi cromatografado (sílica gel) usando acetato de etila- diclorometano como eluente, desta forma fornecendo 35 mg (24% de rendimento) de um sólido correspondente a N-{2-cloro-5-[3-nitro-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 1,90 (3H, s), 3,26 (3H, s), 7,30 (1 H, d, $J = 4,4$ Hz), 7,77 (1 H, d, $J = 8$ Hz), 7,93 (1 H, dd, $J = 2,4$ e $8,4$ Hz), 8,08 (1 H, d, $J = 2$ Hz), 8,83 (1 H, s), 9,01 (1 H, d, $J = 4,8$ Hz).

MS (ES) $m/z = 346$ (MH^+)

5 HPLC = 91 %

Exemplo preparativo 4: N-{2-cloro-5-[3-ciano-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida

Uma mistura de 0,046 g (0,43 mmol) de 5-amino-1*H*-pirazol-4-carbonitrilo e 0,120 g (0,43 mmol) de N-[5-(3-dimetilamino-acrilóil)-2-cloro-fenil]-N-metil-acetamida em 10 mL de ácido acético glacial foi refluxada durante 2,5 horas e em seguida o solvente foi removido através de destilação de pressão reduzida. Ao resíduo resultante foram adicionados 15 mL de diclorometano e 10 mL de solução de bicarbonato de sódio saturada. As duas camadas foram separadas, e a camada aquosa foi lavada com 10 mL de diclorometano. A camada orgânica foi lavada com 10 mL de água e secada sobre sulfato de magnésio. A camada de diclorometano foi evaporada até a secura para produzir um óleo que, na presença de acetato de etila, produziu 108 mg de N-{2-cloro-5-[3-ciano-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida como um sólido (77% de rendimento).

20 ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 1,90 (3H, s), 3,25 (3H, s), 7,20 (1 H, d, $J = 4,4$ Hz), 7,74 (1 H, d, $J = 8,8$ Hz), 7,94 (1 H, dd, $J = 2,4$ e $8,4$ Hz), 8,10 (1 H, d, $J = 2$ Hz), 8,43 (1 H, s), 8,80 (1 H, d, $J = 4,8$ Hz).

MS (ES) $m/z = 326$ (MH^+)

HPLC = 97,7%

25 Exemplo preparativo 5: N-{2-flúor-5-[3-nitro-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida

Uma mistura de 0,043 g (0,33 mmol) de 4-nitro-2*H*-pirazol-3-ilamina e 0,1 g (0,33 mmol) de N-[5-(3-dimetilamino-acrilóil)-2-flúor-fenil]-N-metil-metanossulfonamida em 10 mL de ácido acético glacial foi refluxada durante 2,5 horas e em seguida o solvente foi removido através de destilação de pressão reduzida. Ao resíduo resultante foram adicionados 15 mL de diclorometano e 10 mL de solução de bicarbonato de sódio saturada. As du-

as camadas foram separadas, e a camada aquosa foi lavada com 10 mL de diclorometano. A camada orgânica foi lavada com 10 mL de água e secada sobre sulfato de magnésio. A camada de diclorometano foi evaporada até a secura para produzir um óleo que foi cromatografado (sílica gel) usando acetato de etila-diclorometano como eluente, desta forma fornecendo 58 mg (48% de rendimento) de um sólido correspondente a N-{2-flúor-5-[3-nitro-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 3,02 (3H, s), 3,39 (3H, s), 7,29 (1 H, d, $J = 4,4$ Hz), 7,38 a 7,42 (1 H, m), 8,05 a 8,13 (2H, m), 8,83 (1 H, s), 8,98 (1 H, d, $J = 4,4$ Hz).

MS (ES) $m/z = 366$ (MH^+) HPLC = 97,6%

Exemplo preparativo 6: N-{2-flúor-5-[3-ciano-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida

Uma mistura de 0,036 g (0,33 mmol) de 5-amino-1*H*-pirazol-4-carbonitrilo e 0,1 g (0,33 mmol) de N-[5-(3-dimetilamino-acriloil)-2-flúor-fenil]-N-metil-metanossulfonamida em 10 mL de ácido acético glacial foi refluxada durante 2,5 horas e em seguida o solvente foi removido através de destilação de pressão reduzida. Ao resíduo resultante foram adicionados 15 mL de diclorometano e 10 mL de solução de bicarbonato de sódio saturada. As duas camadas foram separadas, e a camada aquosa foi lavada com 10 mL de diclorometano. A camada orgânica foi lavada com 10 mL de água e secada sobre sulfato de magnésio. A camada de diclorometano foi evaporada até a secura para produzir um óleo que, na presença de acetato de etila, produziu 81 mg de N-{2-flúor-5-[3-ciano-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida como um sólido (70% de rendimento).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 3,01 (3H, s), 3,38 (3H₁ s), 7,29 (1 H, d, $J = 4,4$ Hz), 7,36 a 7,41 (1 H, m), 8,08 a 8,15 (2H, m), 8,42 (1 H, s), 8,77 (1 H, d, $J = 4,4$ Hz).

MS (ES) $m/z = 346$ (MH^+) HPLC = 99,1 %

Exemplo preparativo 7: N-{2-cloro-5-[3-nitro-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida

Uma mistura de 0,050 g (0,39 mmol) de 4-nitro-2*H*-pirazol-3-

ilamina e 0,124 g (0,39 mmol) de N-[5-(3-dimetilamino-acrilóil)-2-cloro-fenil]-N-metil-metanossulfonamida em 12 mL de ácido acético glacial foi refluxada durante 1,5 horas e em seguida o solvente foi removido através de destilação de pressão reduzida. Ao resíduo resultante foram adicionados 15 mL de diclorometano e 10 mL de solução de bicarbonato de sódio saturada. As duas camadas foram separadas, e a camada aquosa foi lavada com 10 mL de diclorometano. A camada orgânica foi lavada com 10 mL de água e secada sobre sulfato de magnésio. A camada de diclorometano foi evaporada até a secura para produzir um óleo que, na presença de acetato de etila, produziu 56 mg de N-{2-cloro-5-[3-nitro-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida como um sólido (77% de rendimento).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 3,08 (3H, s), 3,38 (3H, s), 7,30 (1 H, d, $J = 4,4$ Hz), 7,71 (1 H, d, $J = 8,4$ Hz), 8,04 (1 H, dd, $J = 2$ e 8,4 Hz), 8,14 (1 H, d, $J = 2,4$ Hz), 8,83 (1 H, s), 8,99 (1 H, d, $J = 4,4$ Hz).

MS (ES) $m/z = 382$ (MH^+)

HPLC = 98,5%

Exemplo preparativo 8: N-{2-cloro-5-[3-ciano-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida

Uma mistura de 0,042 g (0,39 mmol) de 5-amino-1*H*-pirazol-4-carbonitrilo e 0,124 g (0,39 mmol) de N-[5-(3-dimetilamino-acrilóil)-2-cloro-fenil]-N-metil-metanossulfonamida em 12 mL de ácido acético glacial foi refluxada durante 1,5 horas e em seguida o solvente foi removido através de destilação de pressão reduzida. Ao resíduo resultante foram adicionados 15 mL de diclorometano e 10 mL de solução de bicarbonato de sódio saturada. As duas camadas foram separadas, e a camada aquosa foi lavada com 10 mL de diclorometano. A camada orgânica foi lavada com 10 mL de água e secada sobre sulfato de magnésio. A camada de diclorometano foi evaporada até a secura para produzir um óleo que, na presença de acetato de etila, produziu 99 mg de N-{2-cloro-5-[3-ciano-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida como um sólido (70% de rendimento).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 3,08 (3H, s), 3,37 (3H, s), 7,20 (1 H, d, $J = 4,4$ Hz), 7,69 (1 H, d, $J = 8,8$ Hz), 8,05 (1 H, dd, $J = 2,4$ e 8,8 Hz), 8,16 (1 H, d, J

= 1,6 Hz), 8,42 (1 H, s), 8,78 (1 H, d, J = 4,4 Hz).

MS (ES) m/z = 362 (MH^+)

HPLC = 93,7%

Exemplo preparativo 9: N-{2-flúor-5-[3-ciano-2-metil-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida

5 Uma mistura de 0,046 g (0,38 mmol) de 5-amino-3-metil-1*H*-pirazol-4- carbonitrilo e 0,1 g (0,38 mmol) de N-[5-(3-dimetilamino-acriloil)-2-flúor-fenil]-N-metil-acetamida em 10 mL de ácido acético glacial foi refluxada durante 2,5 horas e em seguida o solvente foi removido através de destila-
10 ção de pressão reduzida. Ao resíduo resultante foram adicionados 15 mL de diclorometano e 10 mL de solução de bicarbonato de sódio saturada. As duas camadas foram separadas, e a camada aquosa foi lavada com 10 mL de diclorometano. A camada orgânica foi lavada com 10 mL de água e secada sobre sulfato de magnésio. A camada de diclorometano foi evaporada até a
15 secura para produzir um óleo que, na presença de acetato de etila, produziu 92 mg de N-{2-flúor-5-[3-ciano-2-metil-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida como um sólido (75% de rendimento).

1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 1,98 (3H, s), 2,61 (3H, s), 3,3 (3H, s), 7,09 (1 H, d, J = 4 Hz), 7,39 a 7,44 (1 H, m), 7,89 a 8,02 (1 H, m), 8,08 a 8,11 (1 H, m), 8,70 (1 H, d, J = 4,4 Hz).

20 MS (ES) m/z = 324 (MH^+)

HPLC = 98,4%

Exemplo preparativo 10: N-{2-cloro-5-[3-ciano-2-metil-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida

25 Uma mistura de 0,055 g (0,43 mmol) de 5-amino-3-metil-1*H*-pirazol-4- carbonitrilo e 0,120 g (0,43 mmol) de N-[5-(3-dimetilamino-acriloil)-2-cloro-fenil]-N-metil-acetamida em 12 mL de ácido acético glacial foi reflu-
xada durante 1,5 horas e em seguida o solvente foi removido através de destilação de pressão reduzida. Ao resíduo resultante foram adicionados 15
30 mL de diclorometano e 10 mL de solução de bicarbonato de sódio saturada. As duas camadas foram separadas, e a camada aquosa foi lavada com 10 mL de diclorometano. A camada orgânica foi lavada com 10 mL de água e

secada sobre sulfato de magnésio. A camada de diclorometano foi evaporada até a secura para produzir um óleo que, na presença de acetato de etila, produziu 106 mg de N-{2-cloro-5-[3-ciano-2-metil-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida como um sólido (73% de rendimento).

5 ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 1,91 (3H, s), 2,61 (1 H, s), 3,25 (3H, s), 7,10 (1 H, d, J = 4,8 Hz), 7,73 (1 H, d, J = 8,4 Hz), 7,97 (1 H, dd, J = 2 e J = 8 Hz), 8,08 (1 H, d, J = 2,4 Hz), 8,71 (1 H, d, J = 4,4 Hz).

MS (ES) m/z = 340 (MH^+)

HPLC = 99,6%

10 Exemplo preparativo 11: N-{2-flúor-5-[3-ciano-2-metil-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida

Uma mistura de 0,041 g (0,33 mmol) de 5-amino-3-metil-1*H*-pirazol-4- carbonitrilo e 0,1 g (0,33 mmol) de N-[5-(3-dimetilamino-acriloil)-2-flúor-fenil]-N-metil-metanossulfonamida em 10 mL de ácido acético glacial foi
15 refluxada durante 2,5 horas e em seguida o solvente foi removido através de destilação de pressão reduzida. Ao resíduo resultante foram adicionados 15 mL de diclorometano e 10 mL de solução de bicarbonato de sódio saturada. As duas camadas foram separadas, e a camada aquosa foi lavada com 10 ml. de diclorometano. A camada orgânica foi lavada com 10 mL de água e
20 secada sobre sulfato de magnésio. A camada de diclorometano foi evaporada até a secura para produzir um óleo que, na presença de acetato de etila, produziu 66 mg de N-{2-flúor-5-[3-ciano-2-metil-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida como um sólido (55% de rendimento).

25 ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 2,78 (3H, s), 3,17 (3H, s), 3,54 (3H, s), 7,24 (1 H, d, J = 4,4 Hz), 7,51 -7,56 (1 H, m), 8,25 - 8,31 (2H, m), 8,84 (1 H, d, J = 4,4 Hz).

MS (ES) m/z = 360 (MH^+)

HPLC = 98,9%

30 Exemplo preparativo 12: N-{2-cloro-5-[3-ciano-2-metil-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida

Uma mistura de 0,048 g (0,39 mmol) de 5-amino-3-metil-1*H*-pirazol-4- carbonitrilo e 0,124 g (0,39 mmol) de N-[5-(3-dimetilamino-acriloil)-

2-cloro-fenil]-N-metil-metanossulfonamida em 12 mL de ácido acético glacial foi refluxada durante 1,5 horas e em seguida o solvente foi removido através de destilação de pressão reduzida. Ao resíduo resultante foram adicionados 15 mL de diclorometano e 10 mL de solução de bicarbonato de sódio saturada. As duas camadas foram separadas, e a camada aquosa foi lavada com 10 mL de diclorometano. A camada orgânica foi lavada com 10 mL de água e secada sobre sulfato de magnésio. A camada de diclorometano foi evaporada até a secura para produzir um óleo que, na presença de acetato de etila, produziu 89 mg de N-{2-cloro-5-[3-ciano-2-metil-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida como um sólido (60,5% de rendimento).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 2,61 (3H, s), 3,08 (1 H, s), 3,66 (3H, s), 7,10 (1 H, d, $J = 4,8$ Hz), 7,68 (1 H, d, $J = 8,8$ Hz), 8,04 (1 H, dd, $J = 2,4$ e $J = 8,8$ Hz), 8,15 (1 H, d, $J = 2,4$ Hz), 8,70 (1 H, d, $J = 4,4$ Hz).

MS (ES) $m/z = 376$ (MH^+)

HPLC = 98,1 %

Exemplo preparativo 13: N-{2-metil-5-[3-(tiofeno-2-carbonil)-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida

Uma mistura de 0,074 g (0,38 mmol) de (5-amino-1*H*-pirazol-4-il)-tiofeno-2-il-metanona e 0,1 g (0,38 mmol) de N-[5-(3-dimetilamino-acrilóil)-2-metil-fenil]-N-metil-acetamida em 10 mL de ácido acético glacial foi refluxada durante 2,5 horas e em seguida o solvente foi removido através de destilação de pressão reduzida. Ao resíduo resultante foram adicionados 15 mL de diclorometano e 10 mL de solução de bicarbonato de sódio saturada. As duas camadas foram separadas, e a camada aquosa foi lavada com 10 mL de diclorometano. A camada orgânica foi lavada com 10 mL de água e secada sobre sulfato de magnésio. A camada de diclorometano foi evaporada até a secura para produzir um óleo que, na presença de acetato de etila, produziu 132 mg de N-{2-metil-5-[3-(tiofeno-2-carbonil)-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida como um sólido (88% de rendimento).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 1,87 (3H, s), 2,37 (3H, s), 3,25 (3H, s), 7,13 (1 H, d, $J = 4$ Hz), 7,18 a 7,20 (1 H, m), 7,54 (1 H, D, $J = 7,6$ Hz), 7,70 (1 H, d, J

= 5,2 Hz), 7,94 a 7,98 (2H, m), 8,08 (1 H, d, J = 2,8 Hz), 8,71 (1 H, s), 8,81 (1 H, d, J = 4 Hz).

MS (ES) m/z = 391 (MH^+)

HPLC = 98,3%

5 Exemplo preparativo 14: N-{2-metóxi-5-[3-(tiofeno-2-carbonil)-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida

Uma mistura de 0,070 g (0,36 mmol) de (5-amino-1*H*-pirazol-4-il)-tiofeno-2-il-metanona e 0,1 g (0,38 mmol) de N-[5-(3-dimetilamino-acrilóil)-2-metóxi-fenil]-N-metil-acetamida em 10 mL de ácido acético glacial foi refluxada durante 2,5 horas e em seguida o solvente foi removido através de destilação de pressão reduzida. Ao resíduo resultante foram adicionados 15 mL de diclorometano e 10 mL de solução de bicarbonato de sódio saturada. As duas camadas foram separadas, e a camada aquosa foi lavada com 10 mL de diclorometano. A camada orgânica foi lavada com 10 mL de água e secada sobre sulfato de magnésio. A camada de diclorometano foi evaporada até a secura para produzir um óleo que, na presença de acetato de etila, produziu 135 mg de N-{2-metóxi-5-[3-(tiofeno-2-carbonil)-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida como um sólido (92% de rendimento).

15 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 1,90 (3H, s), 3,23 (3H, s), 3,97 (3H, s), 7,12 (1 H, d, J = 4,8 Hz), 7,17-7,21 (2H, m), 7,70 (1 H, d, J = 4,4 Hz), 8,02 (1 H, S), 8,09 (1 H, d, J = 4 Hz), 8,15 (1 H, d, J = 8,8 Hz), 8,71 (1 H, s), 8,79 (1 H, d, J = 4,4 Hz).

MS (ES) m/z = 407 (MH^+)

HPLC = 100%

25 Exemplo preparativo 15: N-{2,4-diflúor-5-[3-(tiofeno-2-carbonil)-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida

30 Uma mistura de 0,217 g (1,12 mmol) de (5-amino-1*H*-pirazol-4-il)-tiofeno-2-il-metanona e 0,3 g (1,12 mmol) de N-[5-(3-dimetilamino-acrilóil)-2,4-diflúor-fenil]-N-metil-acetamida em 10 mL de ácido acético glacial foi refluxada durante 2,5 horas e em seguida o solvente foi removido através de destilação de pressão reduzida. Ao resíduo resultante foram adicionados 15 mL de diclorometano e 10 mL de solução de bicarbonato de sódio saturada.

As duas camadas foram separadas, e a camada aquosa foi lavada com 10 mL de diclorometano. A camada orgânica foi lavada com 10 mL de água e secada sobre sulfato de magnésio. A camada de diclorometano foi evaporada até a secura para produzir um óleo que, na presença de acetato de etila, produziu 320 mg de N-{2,4-difluór-5-[3-(tiofeno-2-carbonil)-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida como um sólido (69% de rendimento).

¹H RMN (250 MHz, CDCl₃): δ 1,82 (3H, s), 3,11 (3H, s), 6,96 a 7,06 (3H, m), 7,55 (1 H, d, J = 4,9 Hz), 7,76 (1 H, t, J = 8,2 Hz), 7,91 (1 H, dd, J = 1 e 3,6 Hz), 8,52 (1 H, s), 8,68 (1 H, d, J = 4,1 Hz).

10 MS (ES) *m/z* = 413 (MH⁺)

HPLC = 99,0%

Exemplo preparativo 16: N-{5-flúor-2-metóxi-3-[3-(tiofeno-2-carbonil)-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida

Uma mistura de 0,180 g (0,93 mmol) de (5-amino-1*H*-pirazol-4-il)-tiofeno-2-il-metanona e 0,275 g (0,93 mmol) de N-[3-(3-dimetilamino-acriiloil)-5-flúor-2-metóxi-fenil]-N-metil-acetamida em 10 mL de ácido acético glacial foi refluxada durante 2,5 horas e em seguida o solvente foi removido através de destilação de pressão reduzida. Ao resíduo resultante foram adicionados 15 mL de diclorometano e 10 mL de solução de bicarbonato de sódio saturada. As duas camadas foram separadas, e a camada aquosa foi lavada com 10 mL de diclorometano. A camada orgânica foi lavada com 10 mL de água e secada sobre sulfato de magnésio. A camada de diclorometano foi evaporada até a secura para produzir um óleo que, na presença de acetato de etila, produziu 160 mg de N-{5-flúor-2-metóxi-3-[3-(tiofeno-2-carbonil)-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida como um sólido (40% de rendimento).

¹H RMN (250 MHz, CDCl₃): δ 2,04 (3H, s), 3,32 (3H, s), 3,56 (3H, s), 7,09 a 7,25 (3H, m), 7,35 (1 H, dd, J = 2,2 e J = 7,1 Hz), 7,72 (1 H, d, J = 4,9 Hz), 8,12 (1 H, d, J = 3,8 Hz), 8,68 (1 H, s), 8,85 (1 H, d, J = 4 Hz).

30 MS (ES) *m/z* = 425 (MH⁺)

HPLC = 98,4%

Exemplo de composição 1: comprimidos de 5 mg

Ingrediente ativo	5,0 mg
Dióxido de silício coloidal	0,6 mg
Croscarmelose sódica	12,0 mg
Talco	4,0 mg
Estearato de Magnésio	1,5 mg
Polissorbato 80	1,0 mg
Lactose	75,0 mg
Metilcelulose de Hidroxipropila	3,0 mg
Polietileno glicol 4000	0,5 mg
Dióxido de titânio E171	1,5 mg
Celulose microcristalina q.s. para	125,0 mg

Exemplo de composição 2: cápsulas de 10 mg

Ingrediente ativo	10,0 mg
Dióxido de silício coloidal	0,6 mg
Crospovidona	12,0 mg
Talco	4,0 mg
Estearato de Magnésio	1,5 mg
Lauril sulfato de sódio	1,5 mg
Lactose	77,0 mg
Gelatina	28,5 mg
Dióxido de titânio E171	1,5 mg
Indigotina E132	0,02 mg
Celulose microcristalina q.s. para	155,0 mg

Exemplo de composição 3: Gotas orais

Ingrediente ativo	0,5 g
Propileno glicol	10,0 g
Glicerina	5,0 g
Sacarina sódica	0,1 g
Polissorbato 80	1,0 g
Sabor de Limão	0,2 g
Etanol	25,0 mL
Água purificada q.s. para	100,0 mL

Exemplo de composição 4: Comprimidos de 2,5 mg

Ingrediente ativo	2,5 mg
Dióxido de silício coloidal	0,6 mg
Croscarmelose sódica	12,0 mg
Talco	4,0 mg
Estearato de Magnésio	1,5 mg
Polissorbato 80	1,0 mg
Lactose	75,0 mg
Metilcelulose de Hidroxipropila	3,0 mg
Polietileno glicol 4000	0,5 mg
Dióxido de titânio E171	1,5 mg
Celulose microcristalina q.s. para	125,0 mg

Exemplo de composição 5: Cápsulas de 5 mg

Ingrediente ativo	5,0 mg
Dióxido de silício coloidal	0,6 mg
Crospovidona	12,0 mg
Talco	4,0 mg
Estearato de Magnésio	1,5 mg
Lauril sulfato de sódio	1,5 mg
Lactose	77,0 mg
Gelatina	28,5 mg
Dióxido de titânio E171	1,5 mg
Indigotina E132	0,02 mg
Microcristalina q.s. para	155,0 mg

Exemplo de composição 6: Gotas orais

Ingrediente ativo	0,25 g
Propileno glicol	10,0 g
Glicerina	5,0 g
Sacarina sódica	0,1 g
Polissorbato 80	1,0 g
Sabor de Limão	0,2 g
Etanol	25,0 mL
Água purificada q.s. para	100,0 mL

REIVINDICAÇÕES

1. Composto selecionado do grupo consistindo em:
 - a) N-{2-flúor-5-[3-nitro-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida;
 - 5 b) N-{2-flúor-5-[3-ciano-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida;
 - c) N-{2-cloro-5-[3-nitro-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida;
 - d) N-{2-cloro-5-[3-ciano-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-
10 acetamida;
 - e) N-{2-flúor-5-[3-nitro-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida;
 - f) N-{2-flúor-5-[3-ciano-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida;
 - 15 g) N-{2-cloro-5-[3-nitro-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida;
 - h) N-{2-cloro-5-[3-ciano-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N- metil-metanossulfonannide;
 - i) N-{2-flúor-5-[3-ciano-2-metil-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-
20 N-metil-acetamida;
 - j) N-{2-cloro-5-[3-ciano-2-metil-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida;
 - k) N-{2-flúor-5-[3-ciano-2-metil-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida;
 - 25 l) N-{2-cloro-5-[3-ciano-2-metil-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida;
 - m) N-{2-metil-5-[3-(tiofeno-2-carbonil)-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida;
 - n) N-{2-metóxi-5-[3-(tiofeno-2-carbonil)-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-
30 il]-fenil}-N-metil-acetamida;
 - o) N-{2,4-diflúor-5-[3-(tiofeno-2-carbonil)-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida; e

p) N-{5-flúor-2-metóxi-3-[3-(tiofeno-2-carbonil)-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-acetamida;

e sais farmacêuticamente aceitáveis e hidratos destes.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1, selecionado do grupo que consiste em:

f) N-{2-flúor-5-[3-ciano-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida;

h) N-{2-cloro-5-[3-ciano-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamide;

k) N-{2-flúor-5-[3-ciano-2-metil-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida;

l) N-{2-cloro-5-[3-ciano-2-metil-pirazol[1,5-a]pirimidin-7-il]-fenil}-N-metil-metanossulfonamida;

e sais farmacêuticamente aceitáveis e hidratos destes.

3. Uso de um composto de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de um medicamento para tratamento ou prevenção de doenças associadas com a modulação de receptor de GABA_A em um mamífero humano ou não humano em necessidade deste.

4. Utilização de acordo com a reivindicação 3, em que o receptor de GABA_A é o receptor de α_1 -GABA_A.

5. Utilização de acordo com a reivindicação 3, em que o receptor de GABA_A é o receptor de α_2 -GABA_A.

6. Uso de um composto de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de um medicamento para tratamento ou prevenção de ansiedade em um mamífero humano ou não humano em necessidade deste.

7. Utilização de um composto de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de um medicamento para tratamento ou prevenção de epilepsia em um mamífero humano ou não humano em necessidade deste.

8. Utilização de um composto de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de um medicamento para tratamento ou prevenção de distúrbios do sono em um mamífero humano ou não humano em necessidade deste.

9. Utilização de um composto de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de um medicamento para tratamento ou prevenção de insônia em um mamífero humano ou não humano em necessidade deste.

5 10. Utilização de um composto de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de um medicamento para indução de hipnose por sedação em um mamífero humano ou não humano em necessidade disto.

11. Utilização de um composto de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de um medicamento para indução de anestesia em um mamífero humano ou não humano em necessidade disto.

10 12. Utilização de um composto de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de um medicamento por modulação do tempo necessário para induzir sono e sua duração em um mamífero humano ou não humano em necessidade disto.

15 13. Utilização de um composto de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de um medicamento para indução de relaxamento muscular em um mamífero humano ou não humano em necessidade disto.

20 14. Composição farmacêutica compreendendo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto como definido na reivindicação 1, junto com quantidades apropriadas de excipientes ou veículos farmacêuticos.

RESUMO

Patente de Invenção: "**PIRAZOL[1,5-a]PIRIMIDINAS, PROCESSOS, USOS E COMPOSIÇÕES**".

5 A presente invenção refere-se a novas pirazol[1,5-a]pirimidinas que são úteis para tratamento ou prevenção de ansiedade, epilepsia e distúrbios do sono incluindo insônia, e para indução de hipnose por sedação, anestesia, sono e relaxamento muscular.